

# Neurochemical heterogeneity of the primate nucleus accumbens

著者	池本 桂子
発行年	1996-03-22
その他の言語のタイトル	霊長類側坐核の神経化学的不均質性 レイチョウルイ ソクザカク ノ シンケイ カガクテ キ フキンシツセイ
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10422/2318">http://hdl.handle.net/10422/2318</a>

氏名・（本籍）	池 本 桂 子（鳥取県）
学 位 の 種 類	博士（医学）
学 位 記 番 号	博士第210号
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位授与年月日	平成8年3月22日
学位論文題目	Neurochemical heterogeneity of the primate nucleus accumbens (霊長類側坐核の神経化学的不均質性)

審査委員	主査 教授	越 智 淳 三
	副査 教授	前 田 敏 博
	副査 教授	高 橋 三 郎

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

腹側線条体に位置する側坐核は、中脳のドーパミン（DA）神経の入力を強く受け、また抗精神病薬の効果発現に関与していることが示唆されている。同核には数多くの神経ペプチドが含まれるが、この領域のペプチドニューロンはDA作動神経系及びノルアドレナリン作動神経系と相互作用を有することが知られている。解剖学的には、patch と matrix に区分される背側線条体とは異なり、ラット側坐核は shell / core / rostral pole の3亜核に区分され、それぞれの亜核はサブスタンスP（SP）及び calbindin D-28（CBD）に対する免疫反応性が異なることが示唆されている。霊長類の尾状核被殻では細胞構築、化学構築、線維連絡によりラット線条体と同様に patch / matrix に区分されることが示されているが、側坐核内の神経機構に関する組織化学的研究は少ないと思われる。

前早期遺伝子 *c-fos* 発現を調べるような手技は、ある程度の刺激に反応する中枢神経回路を同定するために用いることのできる新しい方法である。抗精神病薬投与後、側坐核を含む様々な領域においてニューロン内 *c-fos* の発現が増強することがラットで示されており、霊長類側核においてもそのような事実の確認が必要とされている。

本研究では、ニホンザル側坐核において、DA、チロシン水酸化酸素（TH）、CBD免疫組織化学的技法によって神経解剖学的境界を設定し、エンケファリン（ENK）、SP、ニューロテンシン（NT）などの神経ペプチドの亜核内分布を詳細に調べた。さらにハロペリドール投与後のFos免疫組織化学により薬剤反応性の神経細胞の分布を側坐核内において検討した。

### 〔方 法〕

滋賀医大動物実験施設で飼育中の成熟ニホンザル（*Macaca fuscata*）雌雄13匹を使用した。神経ペプチド、TH、CBD免疫組織化学的実験のために7匹、DA免疫組織化学、Fos免疫組織化学のためにそれぞれ3匹ずつ用いた。

#### 1) 神経ペプチド

深麻酔下、上行及び下行大動脈を用いて灌流固定した。固定液は0.25%グルタルアルデヒド、3-4%パラホルムアルデヒド、0.25%ピクリン酸を含む0.1M磷酸緩衝液（PB、pH=7.4）を使用し、グルタルアルデヒドを含まない同様の固定液により12-24時間、後固定した。クリオスタットもしくは凍結ミクロトームを用いて作製した前頭断の切片を Triton X を含む磷酸緩衝食塩水に5、6日浸漬した後、抗NT抗体（500-2000倍希釈）、抗SP抗体（500-1000倍希釈）、抗ENK抗体（1600-6400倍希釈）で処理した。二次抗体に反応させた後、ABC法で発色させた。

#### 2) ドーパミン（DA）

Van Edén 法の変法を用いた。標本の固定にはメタ重亜硫酸ナトリウム、グルタルアルデ

ヒドを含む固定液とメタ重亜硫酸ナトリウム／グルタルアルデヒド含有の後固定液を使用した。標本ブロックをチオ硫酸ナトリウム含有ショ糖液中に2、3週間浸透した後、クリオスタットを用い30ミクロンの切片を作製した。DAに対する一次抗体を使用し、約1週間浸漬した。

### 3) チロシン水酸化酸素 (TH) と calbindin-D28 (CBD)

神経ペプチド免疫組織化学の場合と同様に実施したが、一次抗体として抗TH抗体と抗CBD抗体を使用した。

### 4) ハロペリドール投与後のFos免疫組織化学

サル2匹にはハロペリドールを、他の1匹には希酢酸 (コントロール実験) を臀部に筋注射した。2時間後、深麻酔下でパラホルムアルデヒドを含む磷酸緩衝液で灌流固定した。ビブラトーム切片を作製し、第一次抗体として抗Fos抗体 (5000倍、CRB OA-11-823) を使用した。

### [結 果]

側坐核内側部分は小型／中等大の細胞から構成されており、CBD免疫反応性は低いが、SP反応性は中等度 - 高度であった。一方、背外側部分は小型細胞から構成されており、CBDは高いがSPが低いという内側部分と反対の免疫染色性を示した。

ENK免疫陽性細胞は側坐核の側坐核の中間／尾側レベルで、その背側部分に分布していた。ENK免疫陽性線維は、どのレベルでも内側部分に中等量みられ、背外側部分では patch を形成していた。

NT免疫陽性細胞のほとんどは側坐核の背外側部 (dorsolateral subdivision) に観察された。SP免疫陽性細胞は側坐核に少数存在していた。NT免疫陽性線維やSP免疫陽性線維は、強いDA免疫染色性を示す背内側部分 (内側部 medial subdivision) に濃密に観察された。腹側部 (ventral subdivision) には中等量のNT免疫陽性線維やSP免疫陽性線維が分布していた。

Fos蛋白免疫陽性の細胞は対照サルの側坐核では極く少数存在していたが、ハロペリドール投与後では側坐核全体、特に内側部において多数観察された。

### [考 察]

最近、霊長類を対象とした研究で側坐核は齧歯類など非霊長類の場合と同様、腹側線条体においてははっきりとした解剖学的な領域として理解されつつある。本研究では、種々の神経性マーカー、すなわちカテコールアミン (DA, TH)、神経ペプチド (SP, ENK, NT)、calcium-binding protein (CBD) を対象とした免疫組織化学によりニホンザル側坐核の亜核分類を試みた。その結果、ラットの側坐核 shell / core に相当する領域がニホンザルでも認められた。さらに霊長類では齧歯類側坐核 shell に相当する部分は、ペプチドやDAに対する免疫染色性により内側亜核及び腹側亜核に区分できた。またラットの core に相当する部分は、ニホンザルではラットの場合よりも複雑な構成成分から成ることが示された。今回、霊長類を用いた初めての実験で、DA遮断薬のハロペリドールに対して感受性のある細胞は側坐核全体、とくにDAと神経ペプチドの豊富な内側亜核に多数分布することが明示され、この領域が抗精神病薬の効果発現にとって重要な役割を担っていることが示されたと思われる。

### [結 論]

本研究で、霊長類の側坐核は組織化学的に少なくとも3亜核、即ち内側、腹側、背外側亜核に区分できることが示された。ハロペリドールに対する感受性がある神経細胞は側坐核全体に分布していたが、特に内側部分に多かった。

## 論文審査の結果の要旨

霊長類側坐核は、齧歯類など非霊長類の場合と同様、腹側線条体において解剖学的に特異な領域として認識されつつある。本研究は種々の神経性マーカーを用いて、霊長類 (ニホンザル *Macaca fuscata*) の側坐核の不均質性を組織化学的に明らかにするとともに、Fos免疫

組織化学法により抗精神病薬の同核内での作用部位を検討したものである。

神経性マーカーとしては、ドーパミン (DA)、チロシン水酸化酵素 (TH)、サブスタンス-P (SP)、エンケファリン (ENK)、ニューロテンシン (NT)、カルシウム結合蛋白カルビンジンD-28 (CBD) を用いた。ラットの同核内亜核である shell (外殻部)、core (中心部) は、細胞構築によるのみではなくSP及びCBDの化学構築によって区分される。これらの化学物質をサルの前坐核に適用して、サルの同核にもラットの shell、core と化学的に相同の亜核が存在することが明らかになった。さらに亜核 shell はDA、SP、NTの化学構築によって背側と腹側に分けられた。そこで、筆者はそれを内側亜核、腹側亜核と名付け、core に相当する亜核を背外側亜核とした。ついで、それぞれの亜核内の神経ペプチドの分布の詳細を検討し、霊長類の前坐核がラットの側坐核よりはるかに複雑であることを示した。

さらに筆者は、機能的神経回路を同定するため、DA遮断薬ハロペリドール投与後の前早期遺伝子 *c-fos* 発現をFos免疫組織化学により検討した。ハロペリドールに対して感受性のある細胞は側坐核全体に多数見られたが、とくにDAと神経ペプチドの豊富な内側亜核に著しく多く分布することが明らかにされ、霊長類側坐核ではこの領域が抗精神病薬の効果発現にとって重要な役割を担っていることが示唆された。

以上のように、本研究は霊長類側坐核の亜核分類を行い、さらに抗精神病薬感受性のある神経細胞の分布を検討したもので、博士 (医学) として価値あるものと認める。